Aus der chem. Abteilung des physiologischen Institutes
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. phil. et Dr. med. Amandus Hahn

Der Erholungsvorgang im Muskel und die Pasteur'sche Reaktion in verschiedenen Geweben

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mario Falian
aus Rottach-Egern

MÜNCHEN 1940
Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn

Aus der chem. Abteilung des physiologischen Institutes
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. phil. et Dr. med. Amandus Hahn

Der Erholungsvorgang im Muskel und die Pasteur'sche Reaktion in verschiedenen Geweben

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mario Falian
aus Rottach-Egern

MÜNCHEN 1940
Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Referent:
Professor Dr. A. Hahn

Tag der mündlichen Prüfung:
1. Juli 1940

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern!

Die beiden Vorgänge: Die Erholung und die Pasteur'sche Reaktion im Muskel werden heute als zwei getrennte Prozesse aufgefaßt, die beide in ihrem Wesen noch gänzlich ungeklärt sind.

Da sich in Hand- und Lehrbüchern falsche Anschauungen eingebürgert haben, so muß eine Kritik der bisherigen Ansichten vorgenommen werden.

Wir haben von vornherein die Vorgänge des intakten Muskels von den Vorgängen im zerkleinerten Muskel bei Gegenwart von Sauerstoff zu trennen. Den ersteren Vorgang bezeichnen wir als den Erholungsvorgang des intakten Muskels, der durch zwei Punkte gekennzeichnet ist:

1. durch den Schwund der durch die Tätigkeit gebildeten Milchsäure und
2. durch den Wiederaufbau von Kohlehydraten.

Bei dem Vorgang im Muskelbrei dagegen handelt es sich nicht um einen Milchsäureschwund bei Sauerstoffgegenwart, sondern um eine Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff, eine Erscheinung, die von *Warburg* mit dem Namen Pasteur'sche Reaktion belegt worden ist.

Wir betrachten zuerst den Erholungsvorgang im isolierten Muskel. Bei ihm sehen wir im Sauerstoffversuch erheblich mehr Milchsäure verschwinden, als der veratmete Sauerstoff verbrennen könnte bei der Annahme einer vollständigen Oxydation von Milchsäure in Kohlendioxyd und Wasser. Schon *Fletcher* und *Hopkins* folgerten daraus, daß die Milchsäure in eine Vorstufe zurückverwandelt wird. *Meyerhof* zeigte, daß diese ein Kohlehydrat ist. Wird ein Mol Milchsäure oxydiert, so verschwinden gleichzeitig 4—5 Mole Milchsäure und werden zurückverwandelt in Kohlehydrate. Dieses Verhältnis von verschwundener zu oxydierter Milchsäure drücken wir aus in einem Oxydationsquotienten:

$$O = \frac{\text{Total verschwundene Milchsäure}}{\text{oxydierte Milchsäureäquivalente}'}$$

der nach *Meyerhof* 4—5 sein soll.

Meyerhof hat nun über den Erholungsvorgang, sowie über die Pasteur'sche Reaktion Vorstellungen geäußert, die sich nicht halten lassen und die vor allem gegen die thermodynamischen Prinzipien

verstoßen. *Meyerhof* nahm zunächst eine gekoppelte Reaktion an zwischen Atmung und Kohlehydratsynthese aus Milchsäure. Nach seiner Ansicht wird die Energie für den endothermen Vorgang des Kohlehydrataufbaues geliefert durch die freiwerdende Energie bei der Milchsäureoxydation. An Stelle von Milchsäure können auch äquivalente Mengen anderer Verbindungen oxydieren und die nötige Energie von 150 cal. frei machen. Neuerdings hat er den Begriff „energetische" Koppelung eingeführt, der vollkommen entbehrlich ist und nur den Anschein erweckt, als wäre damit eine thermodynamische Erklärung der Vorgänge gefunden. Daß die Erholung im Muskel nicht als echte gekoppelte Reaktion aufgefaßt werden kann, zeigt die folgende Betrachtung.

In der Thermochemie kennen wir echte gekoppelte Reaktionen. Sie spielen sich immer unter Abnahme der freien Energie ab. So ist ein chemischer Vorgang an den Ablauf einer Reaktion in der Weise gebunden, daß die freie Energie stärker abnimmt in der Parallelreaktion als die freie Energie anwächst bei der endothermen Reaktion. *Ostwald* definierte (in der Zeitschrift f. physikal. Chemie 34, 248, 1900) die Bedingungen, unter denen gekoppelte Reaktionen ablaufen, folgendermaßen:

1. Die Reaktion muß einer stöchiometrischen Gleichung gehorchen,

2. Der Reaktionsverlauf muß durch eine Gleichung darstellbar sein, die keine Zerlegung in mehrere voneinander unabhängige Gleichungen zuläßt.

3. In der Gleichung dürfen nur ganzzahlige Koeffizienten vorkommen, die nicht willkürlich sind, sondern eindeutig aus der Natur der chemischen Reaktionsgleichung hervorgehen.

Untersuchen wir daraufhin die von *Meyerhof* formulierten Gleichungen für die Erholungsprozesse, so finden wir keine der Bedingungen für eine gekoppelte Reaktion erfüllt. Die den Erholungsvorgang ausdrückende Gleichung:

$$10\,C_3H_6O_3 + 6\,O_2 = 6\,CO_2 + 10\,H_2O + 4/n\,(C_6H_{10}O_5)\cdot n \qquad (1)$$

läßt sich spalten in die beiden unabhängigen Gleichungen:

$$8\,C_3H_6O_3 = 4/n\,(C_6H_{10}O_5)\,n + 4\,H_2O \text{ und} \qquad (2)$$

$$2\,C_3H_6O_3 + 6\,O_2 = 6\,CO_2 + 6\,H_2O \qquad (3)$$

Ferner sind die Koeffizienten willkürlich gewählt. Denn daß gerade 4 Mole Milchsäure in Glykogen übergehen, wenn 1 Mol Milchsäure oxydiert wird, liegt nicht in der Natur der angenommenen gekoppelten Reaktion, sondern ist aus dem experimentellen Resultat annähernd erschlossen. *Meyerhof* suchte nach einem exothermen Vorgang zur Erklärung der endothermen Erholung und betrachtete allein die

Wärmetönung der Reaktion. Diese besitzt aber bei thermochemischen Vorgängen keine Bedeutung, sondern nur die Aenderung der freien Energie ist maßgebend. Es spielen sich viele endotherme Reaktionen ab, bei denen keine besonderen exothermen Parallelreaktionen angegeben werden können. Sie entnehmen ihre nötigen Energien der Umgebung.

Uebertragen wir diese Tatsachen auf den Muskel, so folgern wir, daß die bei der Erholung benötigten Energien der Umgebung entzogen werden. Der zweite Hauptsatz der Wärmelehre verlangt nur, daß bei Zunahme der freien Energie durch die Synthese von Glykogen aus Michsäure auch andere physikalische oder chemische Prozesse sich abspielen müssen, in denen die freie Energie abnimmt, sodaß im Ganzen eine Abnahme der freien Energie des abgeschlossenen Systems stattfindet. Es ist deshalb grundsätzlich falsch, bestimmte endotherme Vorgänge exothermen Reaktionen zuzuordnen und hierauf den Begriff der Koppelung anzuwenden. Der isolierte Muskel stellt einen Wärmebehälter dar, der sich durch exotherme Vorgänge mit Wärme anreichert und der durch endotherme Vorgänge an Wärme verarmt. Der Muskel nimmt sich während seiner Erholung aus diesem Wärmereservoir die nötigen Energien und ergänzt durch andere exotherme Reaktionen und durch Aufnahme neuer Energieträger dieses Defizit, sodaß die Annahme einer energetisch gekoppelten Reaktion für den Erholungsvorgang keine Erklärung ist.

Jede gekoppelte Reaktion ist nach dem Massenwirkungsgesetz umkehrbar. Prüfen wir daraufhin die *Meyerhof*'sche Gleichung (1), die eine gekoppelte Reaktion darstellen soll, so ergibt sich folgende paradoxe Schlußfolgerung und beweist damit die Unmöglichkeit dieser Gleichung: Es könnte Glykogen nur in Milchsäure gespalten werden, wenn Kohlendioxyd und Wasser aufgenommen und gleichzeitig Sauerstoff abgegeben wird.

Die Versuche von *Hahn* und seinen Mitarbeitern „über die Bedeutung der Struktur des Muskels für die Bildung von Kohlehydraten in Sauerstoff“ (Zeitschrift f. Biologie Bd. 91, S. 491; Bd. 92, S. 535) zeigen, daß eine einfache Zurückführung der Erholungsvorgänge auf physikalische und chemische Gesetzmäßigkeiten schon deshalb nicht möglich ist, weil wir es hier mit biologischen Vorgängen zu tun haben, die von der Intaktheit der „Zellstruktur“ abhängen. Greifen solche Komponenten in unsere biologischen Geschehnisse ein, so sind wir nicht in der Lage, sie rein chemisch-physikalisch zu erklären.

Die Abhängigkeit zwischen Struktur des Muskels und der Kohlehydratbildung während der Erholung studieren wir an solchen Muskeln, die in einem Falle längs, im anderen Falle quer zerschnitten sind. Wir schütteln die Muskeln einmal in isotonischer 0,5 % Lithiumlaktat-

Ringerlösung und im Parallelversuch in laktatfreier Salzlösung. Aus diesen vergleichenden Versuchen an unverletzten Froschsartorien, sowie längs zerschnittenen Muskeln ergibt sich, daß die in laktathaltiger Ringerlösung suspendierten Muskeln eine vermehrte Kohlehydratbildung zeigen gegenüber jenen Muskeln, die in laktatfreier Ringerlösung gehalten waren. Wir finden also eine deutliche Kohlehydratbildung aus Milchsäure. Die quer zerschnittenen Muskeln ergeben bei gleichen Versuchsbedingungen eine viel kleinere Kohlehydratvermehrung und bilden nur ein Drittel des Wertes, den wir im unzerkleinerten Muskel finden. Benutzen wir an Stelle von isotonischer eine hypertonische Lösung, so tritt durch die Hypertonie eine weitere Schädigung des zerkleinerten Gewebes hinzu, die bei unverletzten Muskeln zu keiner Beeinträchtigung der Kohlehydratbildung führt, dagegen aber im quer zerschnittenen Muskel diese schon auf 33% verminderte Kohlehydratbildung auf 13% herabsetzt. Wir besitzen damit den experimentellen Nachweis einer Kohlehydratsynthese im Erholungsvorgang des Muskels. Dieser Aufbau findet jedoch nur bei Intaktheit des Organes statt, sodaß sehr wahrscheinlich der gesamte Erholungsvorgang von der Intaktheit der Struktur abhängt.

Neben diesen Schüttelversuchen beweisen die Erholungsversuche an weitgehend ermüdeten Muskeln die Abhängigkeit von Erholung und Struktur. Die noch überhäuteten Froschschenkelpaare werden an der Wirbelsäule aufgehängt und durch Oeffnungsinduktionsströme vom Nerv aus gereizt. Der Gastrocnemius des einen Schenkels wird sofort auf den Kohlehydratgehalt untersucht, der Gastrocnemius der anderen Seite wird von Haut befreit zur Erholung in einen sauerstoffgefüllten Exsikkator aufgehängt. Nun läßt man diesen Erholungsvorgang im Exsikkator an intakten, längs und quer zerschnittenen Muskeln abspielen. Der intakte und längs zerschnittene Muskel zeigt eine Kohlehydratanreicherung gegenüber dem Kontrollversuche. Beim quer zerschnittenen Muskel tritt eine Kohlehydratabnahme ein, die bei kürzerer Versuchsdauer (6 Std.) weniger hervortritt, aber bei langen Erholungsversuchen (22 Std.) um so deutlicher wird. Diese Abnahme der Kohlehydrate bei Sauerstoffanwesenheit ist allein durch die grobe Schädigung des Muskelgewebes verursacht. Fassen wir zusammen, so fanden wir in den Schüttelversuchen bei quer zerschnittenen Muskeln in laktathaltiger Ringerlösung keine oder eine geringe Kohlehydratbildung. In den Erholungsversuchen zeigte sich sogar eine Verminderung der Kohlehydrate. Diese Versuchserkenntnisse widersprechen sich in keiner Weise, sondern ergänzen sich. Durch das einmalige quere Zerschneiden wird ein derartiger Defekt gesetzt, daß die Kohlehydratbildung fast oder ganz eingestellt wird. Untersucht

man längere Zeit weiter, so wirkt sich diese Strukturschädigung in einer Kohlehydratverminderung aus, wahrscheinlich bedingt durch Absterbeerscheinungen.

Wir sehen die Erholung des Muskels von der Intaktheit der Muskulatur abhängig. Sie zeichnet sich aus durch den Schwund von Milchsäure. Ca. $^1/_5$ Mol Milchsäure werden zu CO_2 und H_2O oxydiert und ca. $^4/_5$ Mol werden zu Kohlehydraten zurückverwandelt.

In einem gewissen Gegensatz zu der Erholung des intakten Muskels steht die Pasteursche Reaktion, die wir auch im zerkleinerten Muskel beobachten. Aus den Versuchen von *Hahn* und seinen Mitarbeitern (Zeitschrift f. Biologie, Bd. 91, S. 54) geht hervor, daß im Warmblütermuskelbrei häufig überhaupt keine Bildung von Milchsäure bei Gegenwart von Sauerstoff stattfindet, sondern daß hier die Milchsäurebildung durch Sauerstoff gehemmt wird. Die Versuche werden in der Weise ausgeführt, daß Muskelbrei in Phosphatpuffer aufgeschwemmt und nach Digestion im Vakuum und mit Sauerstoff auf Kohlehydrat- und Milchsäure-Menge untersucht wird. Gleichzeitig läuft ein Kontrollversuch, der die Menge der Kohlehydrate und Milchsäure vor der Digestion feststellt. Es findet ein beträchtlicher Kohlehydratschwund im Muskelbrei während des Vakuumversuches statt bei gleichzeitiger Milchsäurebildung. Bei ca. zweistündigen Sauerstoffversuchen dagegen zeigt sich ein Konstantbleiben sowohl der Kohlehydrate als auch der Milchsäure, d. h., da keine Milchsäurebildung stattfindet, so tritt auch kein Kohlehydratschwund ein. Kurzdauernde Versuche (1 Std.) unterscheiden sich insofern von langdauernden Versuchen (4 Std.), als bei letzteren im zerkleinerten Muskel bei Sauerstoffgegenwart eine geringfügige Abnahme der Kohlehydrate zu beobachten ist, trotzdem der Milchsäurewert über die ganze Versuchsdauer konstant bleibt. Diese Abnahme der Kohlehydrate erklärt sich vielleicht durch die Annahme eines geringen oxydativen Abbaues der Kohlehydrate selbst.

Bemerkenswert ist die Feststellung, daß die Anreicherung von Milchsäure im Muskel nicht bei einem bestimmten Säuregrad des Reaktionsgemisches eingestellt wird, d. h. die Milchsäurebildung einem bestimmten Konzentrationswert zustrebt, sondern solange im Vakuum fortdauert, als nicht ein bestimmtes Minimum (18—21 mg Glukose) der Kohlehydrate erreicht ist (Zeitschrift f. Biologie, Bd. 91, S. 58). Die Ursache dieses Grenzwertes der Gesamtkohlehydrate findet vielleicht darin eine Erklärung, daß der Muskel Kohlehydrate enthält, die keine Milchsäure bilden z. B. Ribose der Adenosinphosphorsäure und ferner, daß durch die Bertrandsche Methode reduzierbare Substanzen mitbestimmt werden, die keine Kohlehydrate sind. Wichtig ist, daß jede

beliebig erzeugte Milchsäurekonzentration im Vakuumversuch durch die Gegenwart von Sauerstoff beliebig lang konstant erhalten werden kann.

Eine Kohlehydratzunahme finden wir in diesen Versuchen niemals. Auch ist sie nicht zu erwarten, da nach den Versuchen an längs und quer zerschnittenen Muskeln die Kohlehydratbildung von der Intaktheit des Gewebes abhängig ist.

Diese Tatsachen beweisen die Unmöglichkeit der Anschauung *Meyerhofs* über die Pasteursche Reaktion. *Meyerhof* legt der Pasteurschen Reaktion den gleichen Mechanismus zugrunde, welchen wir schon bei der Erholung des unverletzten Muskels besprachen und bereits ablehnten. Auch im Muskelbrei soll eine dauernde Umwandlung von Milchsäure in Kohlehydrate bei Sauerstoffgegenwart stattfinden. Der Energiebedarf dieser endothermen Reaktion würde dabei gedeckt werden durch die gleichzeitige Oxydation äquivalenter Menge Milchsäure, die auch durch andere oxydable Verbindungen vertreten werden kann.

Im Muskelbrei entsteht nach seiner Ansicht bei Sauerstoffgegenwart weniger Milchsäure als im Vakuum. Die Differenz der Milchsäurebildung im Vakuum- und Sauerstoffversuch setzt er gleich der total verschwundenen Michsäure. Die oxydierte Milchsäuremenge bestimmt er aus der Atemgröße des zerkleinerten Gewebes. Auf diese Weise gelangt *Meyerhof* für die Pasteursche Reaktion ebenfalls zu einem Quotienten:

$$Q = \frac{\text{Differenz der Milchsäure im Vakuum und Sauerstoff}}{\text{oxydierte Milchsäureäquivalente}},$$

der nach seinen Untersuchungen an Froschmuskelbrei um 4 und 5 schwanken soll.

Wir können in keiner Weise der *Meyerhof*'schen Hypothese Recht geben.

1. Schon aus logischen Erwägungen heraus kann das Verschwinden einer bestimmten Milchsäuremenge während der Erholung des intakten Muskels nicht gleichgesetzt werden mit dem Nichtentstehen einer bestimmten Menge Milchsäure im zerkleinerten Muskel bei Sauerstoffgegenwart.

2. Der formulierte Quotient erweist sich als nicht konstant. *Hahn* und seine Mitarbeiter fanden im Warmblütermuskelbrei Werte, die zwischen 3,2 und 11,8 lagen (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 91, S.55, Tab. 1).

3. *Meyerhof* nimmt an, daß in jedem Zeitmoment die gebildete minimale Menge Milchsäure wieder in Kohlehydrat übergeht *(Meyerhof:* Die chemischen Vorgänge im Muskel. Berlin 1930, S. 118) und

versucht damit das Konstantbleiben der Kohlehydrate im Sauerstoffmedium zu erklären. Es ist aber nicht einzusehen, daß nur gerade die minimal gebildete Milchsäure in Kohlehydrate übergehen soll, wo doch der Muskel noch mehr Milchsäure aufgespeichert hält, aus der dann ebenso Kohlehydrate entstehen könnten.

4. Die Annahme einer Kohlehydratbildung im zerkleinerten Muskel ist deshalb nicht möglich, da eine Resynthese nur bei unverletzten Muskelgeweben stattfindet.

Die neuesten Untersuchungen von *Hahn* und seinen Mitarbeitern (Zeitschrift f. Biologie, Bd. 97, S. 195; Bd. 97, S. 578; Bd. 98, S. 527: Ueber die Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff) haben die Abhängigkeit der Pasteurschen Reaktion von der Anwesenheit eines bestimmten Stoffes ergeben, der sich aus Muskelbrei mit destilliertem Wasser oder Phosphatlösung auswaschen läßt. Dieses Waschwasser vermag im ausgewaschenen unwirksamen Muskelbrei, der keine Pasteursche Reaktion mehr gibt, die alten Verhältnisse vor der Waschung herzustellen. Ebenso gewinnen zerkleinerte Muskeln, die durch einfaches Stehenlassen die hemmende Wirkung des Sauerstoffes auf die Milchsäurebildung verloren haben, die Fähigkeit der Hemmung zurück, setzen wir den wirksamen Stoff z. B. in Form des Waschwassers zu. Die Isolierung dieses kochbeständigen Pasteurschen Stoffes stößt auf gewisse Schwierigkeiten, vor allem wegen der großen Milchsäuremengen im Filtrat. Eine Acetonfällung im Waschwasser bei niedriger Temperatur (unter 5°) beseitigt das Eiweiß. Nach früheren Isolierungsversuchen folgte dann eine Fällung mit Bariumacetat und führte zu einem Niederschlag, der aufgefangen und im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet eine Masse ergab, die sich zu einem feinen Pulver verreiben ließ und so aufgehoben noch wochenlang den wirksamen Stoff enthielt.

Das Vorhandensein eines Stoffes und die Möglichkeit seiner Loslösung aus der Muskelzelle beweist wiederum eindringlich die Unabhängigkeit der Pasteurschen Reaktion von der Zellstruktur. Dieser fundamentale Unterschied zu den Erholungsvorgängen zeigt die Wertlosigkeit der Aufstellung eines Oxydationsquotienten.

Das Konstantbleiben des Milchsäurewertes bei Sauerstoffgegenwart beruht auf der Fähigkeit des Sauerstoffes, hemmend auf die Milchsäurebildung einzuwirken bei Gegenwart des Pasteurschen Stoffes. Da dieser Stoff die Atmung weder steigert, noch einen Einfluß auf sie nimmt, so sind die früheren Erklärungsversuche für die Pasteursche Reaktion von *Meyerhof* unhaltbar.

Wir betonten bis jetzt immer, daß die Pasteursche Reaktion nur im zerkleinerten Muskel stattfindet. Wir weisen nicht die Möglichkeit

von der Hand, daß diese Reaktion auch im unverletzten Muskel sich abspielt und einen Hemmungsfaktor in dem Milchsäurestoffwechselgeschehen darstellen kann.

Die Pasteursche Reaktion in verschiedenen Geweben.

Von Herrn Prof. *Hahn* erhielt ich die Anregung, vergleichende Versuche über die Pasteursche Reaktion in Organgeweben anzustellen. Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Organe Leber und Niere.

Der Reichtum der Leber an Glykogen ließ eine starke Pasteursche Reaktion in diesem Organ vermuten. Besonders die Versuche von *Warburg* machten eine erhebliche Milchsäurebildung im Leber- und Nierengewebe glaubhaft, sodaß eine Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff nicht von der Hand zu weisen war.

Ehe wir entscheiden können, ob eine Pasteursche Reaktion in Organgewebebreien stattfindet, müssen wir uns über die Größe der Milchsäurebildung im Gewebebrei bei Vakuum und bei Sauerstoffgegenwart unterrichten. *Warburg* entwickelte zur Bestimmung der Milchsäure in Gewebsschnitten indirekte Meßmethoden auf manometrischer Grundlage, die zu Bedenken Anlaß geben. Deshalb wird bei unseren Versuchen die Größe der Milchsäurebildung in Organgewebsbreien auf direktem chemischen Weg festgestellt.

Der Gang der Versuche ist folgender: Die Organe frisch geschlachteter Rinder, die ca. eine $^3/_4$ Stunde nach Abtöten der Tiere zur Aufbereitung gelangen, werden durch einen eisgekühlten Fleischwolf getrieben. Die so erhaltenen Organbreie müssen in Phosphatpuffer nach folgenden Ansätzen aufgeschwemmt werden:

5 g Organgewebebrei,
30 g Phosphatpuffer $p_H = 7$ (m/20).

In geeigneten Reagensgläsern werden diese suspendierten Organbreie im Vakuum und bei Sauerstoffatmosphäre in einem Wasserbad von 25° geschüttelt. Die Digestion dauert 2—3 Stunden. Durch einen Kontrollversuch wird der Milchsäurebetrag des Organgewebebreies vor der Digestion ermittelt. Die Weiterbehandlung erfolgt auf die von *Hahn* und seinen Mitarbeitern angegebene Weise*), die im Folgenden kurz geschildert wird. Der Kontrollversuch, sowie die digerierten Ansätze werden nach *Embden* mit Sublimat-Salzsäure enteiweißt. Nach Neutralisation mit 30% NaOH gegen Phenolphthalein schließt sich eine Kupfersulfat-Kalkmilch-Fällung nach *Clausen* an, um die in Lösung befindlichen Kohlehydrate zu beseitigen. Die Niederschläge werden abfiltriert und 200 ccm Filtrat zur Bestimmung

*) *Hahn:* Einführung in die phys.-chem. Arbeitsmethoden auf Seite 26 und 34.

der Milchsäure nach *Friedemann, Cotonio* und *Shaffer* benutzt. In einigen Versuchsreihen erfolgten Zusätze von Glukose und Hexosediphosphorsäure, um einen etwaigen Mangel an Milchsäurebildnern auszugleichen.

Die Tabellen 1 und 2 enthalten die Versuchsergebnisse mit Leber- und Nierengewebebrei. Die gebildete Milchsäure wird in Milligramm angegeben.

Tabelle 1. Milchsäure (mg)

Versuche mit Lebergewebe

	I.			II.			III.		
Nr.	K.	V.	S.	K.	V.	S.	K.	V.	S.
1.	14.0	16.0	16.8						
2.	12.0	12.4	12.6						
3.	34.8	36.4	36.8	31.6	33.6	34.8	32.8	34.4	35.4
4.	7.2	8.1	8.5	8.0	8.5	10.5	8.0	8.7	10.5
5.	6.0	6.7	7.2	5.5	6.3	7.0	6.7	7.9	8.0

Tabelle 2. Milchsäure (mg)

Versuche mit Nierengewebe

	IV.			V.			VI.		
Nr.	K.	V.	S.	K.	V.	S.	K.	V.	S.
1.	10.0	12.1	12.0	10.9	13.0	14.1			
2.	14.3	15.8	16.6	14.0	18.2	19.3	14.4	23.3	21.4
3.	7.7	9.7	9.6	7.6	11.7	12.6			
4.	8.5	9.6	9.5	8.2	11.5	16.9			

K. = Kontrollversuch: Michsäuremenge zu Beginn des Versuches.
V. = Milchsäuremenge nach Digestion im Vakuum.
S. = Milchsäuremenge nach Digestion im Sauerstoff.

I. Versuchsreihe: 5 g Leberbrei; 30 ccm Phosphatpuffer $p_H = 7$ (m/20)
II. „ : 5 g Leberbrei; 30 ccm Phosphatpuffer + 25 % Glukose (1,76 g Glukose auf 200 ccm Puffer)
III. „ : 5 g Leberbrei; 30 ccm Phosphatpuffer + Hexosediphosphorsäure (1,5 g auf 100 ccm Puffer)
IV. „ : 5 g Nierenbrei; 30 ccm Phosphatpuffer $p_H = 7$ (m/20)
V. „ : 5 g Nierenbrei; 30 ccm Phosphatpuffer + 25 % Glukose
VI. „ : 5 g Nierenbrei; 30 ccm Phosphatpuffer + Hexosediphosphorsäure

Aus den Tabellen 1 und 2 geht hervor, daß die Milchsäurebildung im Vakuumversuch gegenüber derjenigen des Kontrollversuches nicht wesentlich gesteigert ist. Auch Vakuum- und Sauerstoffversuch weisen in der Größe ihrer Milchsäurebildung keinen Unterschied auf.

Diese Reaktionsweise des Leber- und Nierengewebebreies steht im Gegensatz zum Verhalten des Muskelgewebebreies. Bei letzterem zeigt sich im Vakuumversuch eine starke Vermehrung der Milchsäurebildung, wie Tabelle 3 veranschaulicht.

Tabelle 3. Milchsäure (mg)

Versuche mit Muskelgewebe

Nr.	Kontrollversuch	Vakuumversuch	Sauerstoffversuch
1.	28.4	49.2	24.2
2.	22.4	40.2	21.2
3.	11.5	36.8	10.3

Im Muskelgewebebrei ist auch die Pasteursche Reaktion deutlich ausgeprägt, während sie im Leber- und Nierengewebebrei nicht zu beobachten ist. Die Werte der Milchsäurebildung zeigen bei diesen beiden Organen in den einzelnen Versuchen zu geringe Differenzen.

Nach Angaben von *Warburg* hängt die Milchsäurebildung in Organschnitten von deren Dicke ab. Sollen bei vergleichenden Versuchen richtige Ergebnisse gefunden werden, so dürfe eine bestimmte Dicke der Organschnitte nicht überschritten werden. Da hier eine Beziehung zwischen Dicke der Organschnitte und Milchsäurebildung zu bestehen scheint, interessierte die Frage, ob ein bestimmter Zerkleinerungsgrad der Organgewebe auf die Milchsäurebildung Einfluß hat. Zur Nachprüfung wurde Leber und Niere einmal durch einen gewöhnlichen Fleischwolf, im anderen Falle durch die Latapie-Mühle getrieben, um verschiedene Zerkleinerungsgrade zu erreichen.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4. Milchsäure (mg)

Versuche mit Nierengewebe

	Grobe Zerkleinerung (Fleischwolf)			Feine Zerkleinerung (Latapie-Mühle)		
Nr.	K.	V.	S.	K.	V.	S.
1.	9.3	10.6	10.3	9.2	12.4	12.6
2.	8.8	10.3	10.8	8.3	9.9	10.5
3.	8.2	9.5	10.8	8.8	9.6	—

Die Ansätze haben die Zusammensetzung: 5 g Nierenbrei; 30 ccm Phosphatpuffer $p_H = 7$ (m/20). Der Versuch Nr. 3 wurde mit einem Zusatz von 0,5 % Glukose (600 ccm Puffer = 9,9 g Glukose) ausgeführt.

Aus Tabelle 4 geht eindeutig hervor, daß die Feinheit der Zerkleinerung der Organgewebe keinen Einfluß auf die Milchsäurebildung hat. Auch in diesem Falle ist die geringe Milchsäurebildung nicht auf das Fehlen von Kohlehydraten (Glykogen) zurückzuführen, da auch das Hinzufügen von Glukose keine Steigerung der Milchsäurebildung hervorruft, wie Versuch Nr. 3 der Tabelle 4 beweist.

Zusammenfassung:

1. In den zerkleinerten Leber- und Nierengeweben findet keine erhebliche Bildung von Milchsäure im Vakuumversuch statt. Eine Milchsäurebildung wird auch durch Hinzufügen von Milchsäurebildnern nicht erhöht.

2. Eine Pasteursche Reaktion kann in Leber- und Nierengewebe nicht beobachtet werden.

Im zerkleinerten Muskelgewebe dagegen ist eine starke Milchsäurebildung im Vakuum nachweisbar und vor allem die Fähigkeit der Milchsäurehemmung bei Sauerstoffgegenwart festzustellen.

3. Die Feinheit der Zerkleinerung der Organgewebe hat keinen Einfluß auf die Milchsäurebildung.

Ich empfinde es als eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. phil. et Dr. med. *Amandus Hahn* zu danken für die Ueberlassung des Themas, sowie für seine wertvolle Anleitung und Beratung.

Literaturverzeichnis

Zeitschrift für physikal. Chemie 34, 1900.

Zeitschrift für Biologie Bd. 91, 92, 97, 98, 99.

Meyerhof: Die chemischen Vorgänge im Muskel. Berlin 1930.

Hahn: Einführung in die physiologisch-chemischen Arbeitsmethoden. 1936.

Hahn: Grundriß der Biochemie für Studierende. 1932.

Lebenslauf

Am 9. März 1915 wurde ich in Tokyo als Sohn des Ingenieur-Kaufmanns Curt L. Falian geboren und kam im Alter von 5 Jahren nach Deutschland. Am 28. Februar 1934 erhielt ich an dem Annen-Realgymnasium in Dresden das Reifezeugnis. Seit dem Herbste 1934 widmete ich mich nach Ableisten der Arbeitsdienstzeit (23. 4. 34 bis 13. 10. 34) dem Medizinstudium, das ich nach 10 Semester Studium an der Universität München mit dem Sommersemester 1939 beendete.

Den I. und II. Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung bestand ich am 6. April 1936 und 15. April 1937 in München. Das Medizinische Staatsexamen legte ich vom 15. April bis 28. Juni 1940 in München ab.

Am 12. Oktober 1939 wurde mir in München die Bestallung als Arzt erteilt.

Mario Falian